

氏 名	今 枝 広 丞
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 6 4 7 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 3 年 9 月 1 4 日
学 位 論 文 題 目	Interleukin-33 suppresses Notch ligand expression and prevents goblet cell depletion in dextran sulfate sodium-induced colitis. (インターロイキン-33はNotchリガントの発現を抑制することにより、デキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎モデルマウスの杯細胞の減少を抑制している)
審 査 委 員	主 査 教 授 遠 山 育 夫 副 査 教 授 扇 田 久 和 副 査 教 授 小 笠 原 一 誠

論文内容要旨

*整理番号	652	(ふりがな) 氏 名	いまえだ ひろつく 今枝 広丞
学位論文題目	<p>Interleukin-33 suppresses Notch ligand expression and prevents goblet cell depletion in dextran sulfate sodium-induced colitis (インターロイキン-33は Notch リガントの発現を抑制することにより、デキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎モデルマウスの杯細胞の減少を抑制している)</p>		
<p>【研究の目的】</p> <p>インターロイキン (IL)-33 は近年 ST2 の ligand として報告された IL-1 family に属する cytokine である。マウスへの投与により気管および腸管において goblet cell の著明な増加を認める。以前の検討では IL-33 が潰瘍性大腸炎の活動期に、特に大腸上皮筋線維芽細胞に高発現していることが明らかとなった。現在、IL-33 による杯細胞の増加についての機序は明らかとなっていない。</p> <p>Jagged 1 (JAG1) は Notch リガントの 1 つであり、Wnt シグナルや Hedgehog (Hh) シグナルとともに腸管上皮細胞の分化誘導を担っている。JAG1 および JAG2 を ligand とする Notch1 シグナルが亢進すると、腸管上皮は吸収上皮への分化へ向かう。一方、Delta-like protein 1 (DLL1) や Delta-4 をリガントとする Notch 3 シグナルが亢進すると杯細胞やパネート細胞への分化が促進される。</p> <p>腸炎における Notch シグナルの役割について検討するとともに、腸管上皮の分化と炎症時の IL-33 の作用を明らかとするため、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を用いた腸炎モデルマウスにおける検討を行った。</p> <p>【方法】</p> <p><u>IL-33 腹腔内投 2%デキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎モデルマウス:</u> メス 8 週齢 BALB/c に対し 2%デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を自由飲水にて投与した群を 2% DSS 群、通常飲水させた群を control 群とした。さらに 1μg/body の IL-33 を 0.5cc の PBS に溶解し 2 日毎に腹腔内投与した群を control IL-33 ip 群、2%DSS IL-33 ip 群とし、PBS 0.5cc を投与した群を control PBS ip 群、2%DSS PBS ip 群とした。13 日目に腸管を採取し、EDTA 含有 DMEM にて上皮と上皮組織分離した。採取した腸管は JAG1, DLL1, Delta-4 の免疫組織化学, リアルタイム PCR を施行した。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. *印の欄には記入しないこと。

マウス上皮細胞と大腸上皮筋線維芽細胞の培養： マウス腸管から単離した大腸上皮筋線維芽細胞とマウス上皮細胞である YAMC を 1 μ g/mL medium の IL-33 とともに培養し、免疫組織化学およびリアルタイム PCR を施行した。

【結果】

IL-33 投与 2%DSS 誘発腸炎モデルマウスにおける JAG1, DLL1, Delta-4 の発現： 2% DSS 腸炎マウスにおいて、JAG1, DLL1, Delta-4 の発現はともに上昇していた。EDTA で上皮と上皮下組織とに分離して検討すると、上皮においては JAG1, DLL1, Delta-4 とともに DSS colitis で上昇を認めているが、上皮下組織では Delta-4 は同様に上昇を認めたが、JAG1 の上昇は軽度であった。JAG1, DLL1, Delta-4 mRNA は IL-33 ip により有意に発現が低下した。

2%DSS 腸炎マウスでは IL-33 ip 群が有意に体重減少、disease activity index 上昇、腸管長の短縮、腸管重量の増加を認めた。

マウス上皮細胞と大腸上皮筋線維芽細胞の培養： 単離したマウス筋線維芽細胞において JAG1 mRNA は IL-33 で濃度依存的に抑制されたがマウス上皮細胞 YAMC では有意な変化を認めなかった。

【考察】

マウスにおいては腸炎では上皮および上皮下組織ともに JAG1, DLL1, Delta-4 が発現が亢進していることが明らかとなった。しかしながら IL-33 は JAG1 を抑制し分化を一方に傾けることにより杯細胞の増加を促している可能性が示唆された。杯細胞の増加は、ムチンの増加にもつながり、腸管粘膜には保護的に作用するとされている。潰瘍性大腸炎の粘膜において IL-33 が高発現していることは、杯細胞を増やし、粘膜バリアーの増強を促していると考えられる。

しかし IL-33 投与により腸炎の増悪につながっていることが明らかとなった。IL-33 を投与された DSS 腸炎モデルマウスにおいては、疾患活動性の増悪とともに体重の回復が遅れていた。慢性的な炎症により IL-33 が高発現しているような組織においては、粘膜修復としては抑制に作用していると考えられる。

【結論】

IL-33 は筋線維芽細胞および上皮細胞の Jagged1 の発現を抑制することにより、大腸粘膜上皮細胞の分化を杯細胞へ促している可能性が示唆された。大腸粘膜再生における Notch リガントの活性化においては、IL-33 の抑制が粘膜治癒の新たな標的となる可能性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	652	氏名	今枝広丞
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>インターロイキン (IL) -33 は、潰瘍性大腸炎の活動期に大腸上皮下筋線維芽細胞に高発現する。また、IL-33 をマウスに投与すると気管や腸管粘膜で杯細胞が増加する。その機序は不明であるが、杯細胞への分化には Notch シグナルが重要な働きをしていると考えられている。そこで、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) による腸炎モデルマウスを用いて炎症反応や Notch シグナルに対する IL-33 の影響を解析した。</p> <p>その結果、正常対照群に比べ生食投与腸炎モデルマウスでは杯細胞数が減少した。一方、IL-33 投与腸炎モデルマウスでは杯細胞数が増加し、疾患活動性インデックスの上昇や体重減少などの炎症所見が増悪化した。Notch リガンド (Jagged1、DLL1、Delta-4) は、生食投与腸炎モデルマウスで発現が亢進したが、IL-33 投与により抑制された。杯細胞への分化を誘導する DLL1、Delta-4 に比べ、吸収上皮細胞への分化を誘導する Jagged1 が強く抑制された。</p> <p>この研究成果は、腸炎において IL-33 が炎症の増悪化と Notch シグナルの制御を通して杯細胞の過形成を誘導することをはじめて明らかにしたものである。よって本論文は、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。なお、申請者は最終試験 (論文内容とそれに関連した試問) に合格した。</p>			
(総字数 568 字)			
(平成 23 年 9 月 5 日)			